

NOUVEAUX MODES D'ADMINISTRATION INTRAOCULAIRE EN THÉRAPEUTIQUE OPHTALMOLOGIQUE

NOVEL DRUG DELIVERY SYSTEMS TARGETING INTRAOCULAR TISSUES

Par Marianne BERDUGO POLAK¹, Elodie TOUCHARD, Jean-Louis BOURGES, Laura KOWALCZUK, Carole BLOQUEL, Mounia HALHAL, Francine BEHAR-COHEN
(Communication présentée le 3 février 2011)

RÉSUMÉ

La mise sur le marché de molécules innovantes pour le traitement des maladies oculaires chroniques a révélé la pauvreté des moyens de les administrer, mais elle a aussi ouvert la voie à la recherche dans ce domaine. Dans le but de limiter la fréquence des administrations, des polymères, biodégradables ou non, ont été développés pour libérer des principes actifs directement dans la cavité vitrénne. L'utilisation du courant électrique est à l'origine de deux techniques d'administration innovantes : l'iontophorèse, qui permet d'administrer des principes actifs en intraoculaire sans aucune effraction, et l'électroporation de plasmide dans le muscle ciliaire, qui permet de faire produire par ce muscle une molécule thérapeutique, directement dans la chambre postérieure, et ce pendant plusieurs mois. Dans le futur proche, pour chaque maladie nécessitant un principe actif particulier, nous disposerons d'une méthode adaptée d'administration ciblant spécifiquement un tissu oculaire.

Mots-clés: Systèmes de délivrance oculaire, polymères, poly (ortho esters), iontophorèse, électroporation, électrotransfert de plasmide, implant intraoculaire, système particulière de délivrance.

SUMMARY

The availability of new therapeutic molecules for the management of chronic intraocular diseases has highlighted the deficiency of drug delivery systems for their administration. New research programs on drug delivery methods designed to reduce the administration frequency have led to the development of various polymers, biodegradable or not, that release therapeutic molecules directly into the vitreous cavity. Two innovating ocular delivery methods are now available, based on the use of electrical current: iontophoresis, a non-invasive intraocular delivery method for various molecules, and plasmid electroporation into the ciliary muscle, in which the muscle produces a therapeutic molecule directly inside the posterior chamber for several months. In the near future, we will be able to administer therapeutic molecules to treat a specific disease using a method of administration targeting a specific intraocular tissue.

Key words: Ocular drug delivery, polymers, poly (ortho esters), iontophoresis, electroporation, plasmids electrotransfer, intraocular device, particle-mediated drug delivery.

(1) Physiopathologie des maladies oculaires; Innovations thérapeutiques, Inserm UMRS 872 Equipe 17 - Centre de Recherche des Cordeliers, Université Paris Descartes, 15 rue de l'École de Médecine, 75006 Paris
Courriel : marianne.berdugo@inserm.fr

En thérapeutique ophtalmologique, quelles que soient la maladie à traiter et la molécule à administrer, le choix d'un mode d'administration adapté est déterminant. Le mode d'administration idéal est celui qui permet l'obtention d'une concentration thérapeutique durable, spécifiquement dans le tissu cible, épargnant le reste de l'organisme et les autres tissus oculaires; c'est aussi un mode d'administration atraumatique et facile à mettre en œuvre, nécessitant peu – ou pas – de retraitement. À l'heure actuelle, on sait très bien cibler le segment antérieur de l'œil par des voies d'administration locales, tandis que le ciblage du segment postérieur nous oblige à recourir soit à des voies locales traumatiques (injections intravitréenne, rétrobulbaire), soit à des voies systémiques (intraveineuse, intramusculaire, *per os*), associées à des risques de complications ou d'effets secondaires. Alors que notre arsenal thérapeutique s'est enrichi de nouvelles molécules (antiangiogéniques, neuroprotectrices, immunomodulatrices) qui révolutionnent les possibilités de traitement des maladies oculaires chroniques, leur mode d'administration constitue un facteur limitant, à la fois de l'efficacité, de la compliance et entraîne des risques de complications. Un important domaine de recherche, qui concerne les segments antérieur comme postérieur de l'œil, est la mise au point de systèmes de délivrance prolongée et contrôlée de principes actifs (PA), systèmes qui permettent, en réduisant le nombre d'administrations, de maintenir une concentration efficace constante au site d'intérêt. Un autre axe de recherche concerne l'utilisation du courant électrique afin d'améliorer la pénétration intratissulaire et intracellulaire de PA ou de plasmides codant des molécules d'intérêt.

Le ciblage tissulaire nécessite le franchissement des **barrières oculaires** par le principe actif. Les dispositifs oculaires de délivrance prolongée des médicaments contournent ces barrières, soit parce qu'on les injecte directement dans une cavité intraoculaire, si leurs propriétés physiques le permettent, soit parce qu'on les implante chirurgicalement au contact des tissus à traiter, s'ils sont solides. Leur principal avantage est qu'ils délivrent progressivement un PA pendant des semaines ou des mois, temps pendant lequel aucune ré-administration n'est nécessaire. Ils sont conçus spécifiquement pour traiter un tissu ou un type cellulaire, dans un type de maladies, sont adaptés aux propriétés physico-chimiques d'un principe actif et au type de cinétique de délivrance souhaité.

SYSTÈMES POLYMÉRIQUES DE DÉLIVRANCE MÉDICAMENTEUSE

Implants polymériques solides non biodégradables

Ces implants sont fabriqués avec un polymère qui contient le principe actif dans sa structure et le libère par diffusion dans le milieu environnant, tandis que la structure elle-même n'est pas dégradée. Leur principal inconvénient est qu'ils nécessitent une première intervention chirurgicale de mise en place et une

seconde, pour les retirer ou les remplacer une fois vides. Ces interventions concernent essentiellement le segment postérieur et sont associées aux complications habituelles : hémorragie, décollement de rétine, endophtalmie, œdème maculaire cystoïde, formation de membranes épitréiniennes, ou à une possibilité de migration de l'implant (Lim *et al.* 1999). Différentes structures polymériques sont compatibles avec l'usage ophtalmologique. Les implants de copolymères d'alcool polyvinylique-acétate de vinyle-éthylène (PVA-EVA) permettent une libération de médicaments pendant des durées qui atteignent trois ans, sans pic initial de libération (*burst*) et avec un passage systémique limité (Driot *et al.* 2004). Deux implants intravitréens ont été commercialisés par Bausch & Lomb : Vitrasert qui libère 4,5 mg de ganciclovir en cinq à huit mois, indiqué dans la rétinopathie à cytomégalovirus et Rétisert qui libère 0,59 mg d'acétone de fluocinolone en 30 mois, indiqué dans les uvéites postérieures non infectieuses. Leur prix est cependant prohibitif pour la médecine vétérinaire et le Vitrasert a été retiré du marché en raison d'un taux de complications important.

En 2002, des cellules génétiquement modifiées pour produire du *Ciliary Neurotrophic Factor* (CNTF) (cytokine neuroprotectrice), encapsulées dans un polymère, ont été implantées dans la cavité vitréenne de jeunes chiens, âgés de sept semaines et atteints d'atrophie rétinienne progressive. Les cellules ont secrété du CNTF pendant sept semaines et les contrôles histologiques montrent une réduction significative de la vitesse de dégénérescence rétinienne (Tao *et al.* 2002). L'implant ne modifie pas l'électrorétinogramme (ERG) chez le lapin normal (Bush *et al.* 2004). Le dispositif NT-501, utilisant cette technologie de cellules encapsulées, a été mis au point pour être fixé dans la cavité vitréenne humaine. Il a été testé dans des études de phase I et II/III chez des patients atteints de dégénérescence des photorécepteurs (Thanos *et al.* 2004). le CNTF a été secrété pendant six semaines dans le vitré des patients et une amélioration de l'acuité visuelle à 6 mois a été constatée dans 50% des cas (Sieving *et al.* 2006).

Implants polymériques solides biodégradables

Lorsque l'implant est biodégradable, le PA est libéré au fur et à mesure de sa dégradation. Les plus utilisés sont les implants d'acides poly-lactique (PLA), poly-glycolique (PGA) et poly-lactique-co-glycolique (PLGA). L'hydrolyse des chaînes polymériques entraîne un pic initial de libération (Vert *et al.* 1994), suivi d'une phase de diffusion qui dépend de la vitesse de dégradation du polymère, de la surface de l'implant et de l'hydro-solubilité du PA, et d'un pic final de libération (Miller *et al.* 1977). Plusieurs formes d'implants existent : bâtonnet, clou, granulaire, discoïde ou en plaque et on peut les implanter en chambre antérieure, dans le vitré, en pars plana ou en intrascléral. Un implant cylindrique de PLGA contenant 60 µg de dexaméthasone est actuellement à l'essai (Surodex®) chez l'homme : implanté sous le volet scléral au cours d'une intervention combinée de phako-trabéculéctomie, il permet un bon contrôle de la pression intra-oculaire pendant au moins 20 mois,

alors que la totalité de la dexaméthasone est libérée en deux semaines (Seah *et al.* 2005). Le même implant, placé dans la chambre antérieure de rats, a réduit le taux de rejet de greffe cornéenne (Kagaya *et al.* 2002). Un implant de PLGA contenant de l'héparine s'est également montré efficace pour prévenir l'opacification secondaire de la capsule postérieure du cristallin chez le lapin (Xie *et al.* 2003) et des clous scléraux de PLGA contenant du tacrolimus (FK506, immunosuppresseur) ont réduit significativement l'incidence des uvéites. Chez la souris atteinte de dégénérescence rétinienne, des substrats de PLA/PLGA contenant des cellules souches rétinienne ont été greffés dans l'espace sous-rétinien: dix fois plus de cellules souches ont ainsi survécu et se sont différenciées, par rapport à leur injection simple sans encapsulation (Tomita *et al.* 2005).

Les polycaprolactones (PCL) et les polyanhydrides sont aussi utilisés dans l'œil et permettent une libération médicamenteuse régulière respectivement pendant plus de 250 jours (Peyman *et al.* 1996) et trois ans (Leong *et al.* 1986).

Dans notre laboratoire, nous avons beaucoup travaillé avec des poly (ortho esters) (POE) qui sont des polymères hydrophobes dégradés par érosion de surface, laquelle autorise la libération régulière du PA dans un milieu biologique. Les POE ont une excellente biocompatibilité qui a été testée après des injections sous-conjonctivales, intracaméculaires, intravitréennes (**figure 1**) ou suprachoroïdienne (Einmahl *et al.* 2003). En faisant varier leur composition chimique, on agit sur leur consistance qui peut aller d'un état solide à un état semi-solide injectable, on modifie leur vitesse de dégradation et donc, la durée pendant laquelle est libéré le PA. Chez le lapin, le POE IV contenant un % de 5-fluorouracile ou de 5-chlorouracile

(agents antimétabolites et antifibrosants), injecté sous la conjonctive en fin de chirurgie filtrante du glaucome, améliore le taux de succès chirurgical (Einmahl *et al.* 2001; Polak *et al.* 2008). Le POE IV/1% 5-FU est actuellement en essai clinique de phase II chez l'homme et trois mois après l'intervention, les bulles de filtration, témoins de la perméabilité de la sclère à l'humeur aqueuse, sont toujours présentes (données non publiées).

Systèmes particuliers de délivrance des médicaments

Il s'agit des nanosphères, nanocapsules, microsphères et microcapsules selon que leur taille est de l'ordre du nm ou du μm et qu'elles possèdent ou non une cavité centrale. Comme précédemment, le PA est « piégé » dans une matrice polymérique, mais le grand avantage des particules est de pouvoir les injecter à l'aide d'une aiguille fine, ce qui rend leur usage plus simple et réduit les risques associés. Leur taille et leur composition chimique influencent leur comportement *in vivo*: les microparticules se comportent comme un réservoir dans le corps vitré, les microsphères de PLA persistent environ un mois et demi dans le vitré de lapin, tandis que les nanoparticules diffusent rapidement et sont internalisées dans les cellules des segments antérieur et postérieur (Ogura & Kimura, 1995; Bourges *et al.* 2003; de Kozak *et al.* 2004; Bejjani *et al.* 2005).

Expérimentalement, des microsphères de PLGA contenant du GDNF (Glial cell line-Derived Neurotrophic Factor, facteur de survie neuronale), injectées dans l'humeur vitrée de souris, retardent la dégénérescence rétinienne mais, dans certains cas, elles s'agrègent, provoquant une réaction gliale rétinienne (Andrieu-Soler *et al.* 2005), sans répercussion sur l'ERG. Des nanoparticules

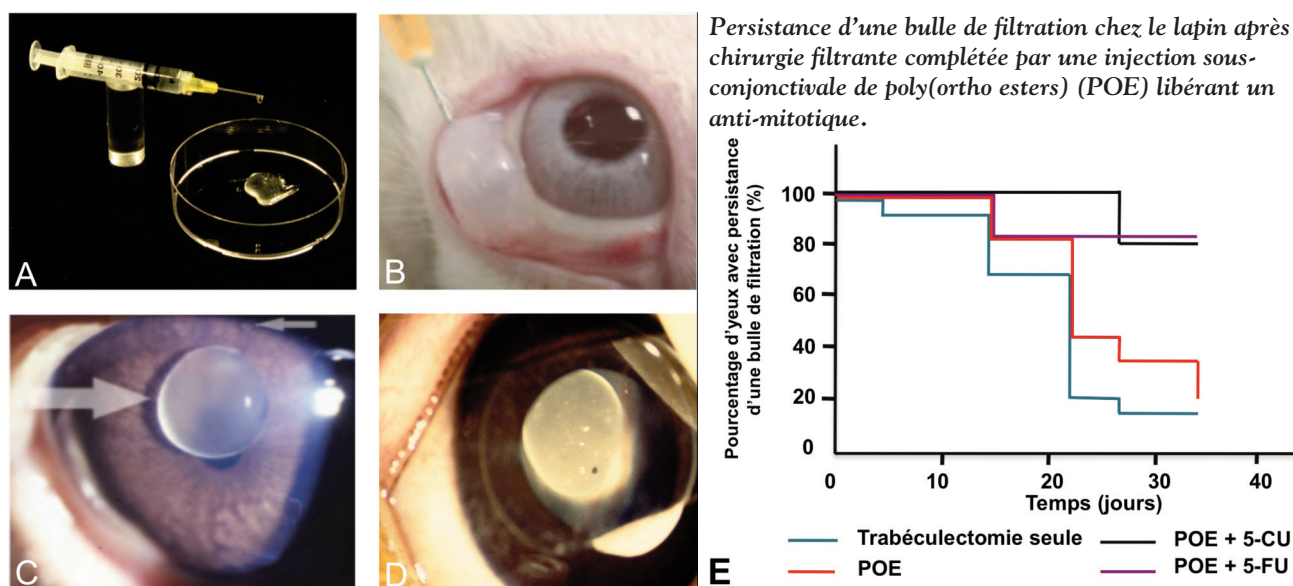


Figure 1 : **A :** Aspect visqueux, semi-solide du poly (ortho esters) le rendant injectable. **B, C, D :** Tests de biocompatibilité réalisés chez le lapin dans l'espace sous-conjonctival (B), en chambre antérieure (C), dans le vitré (D). **E :** Le poly (ortho esters) (POE) a été utilisé chez le lapin pour administrer du 5-chlorouracile (5-CU) ou du 5-fluorouracile (5-FU) (deux anti-mitotiques) en per-opérateur de la chirurgie filtrante, dans le but d'inhiber l'obstruction du site de filtration responsable d'échecs chirurgicaux. La perméabilité à l'humeur aqueuse du site de filtration est attestée par la persistance d'une bulle de filtration. D'après Polak MB et al. 2008

COMMUNICATION

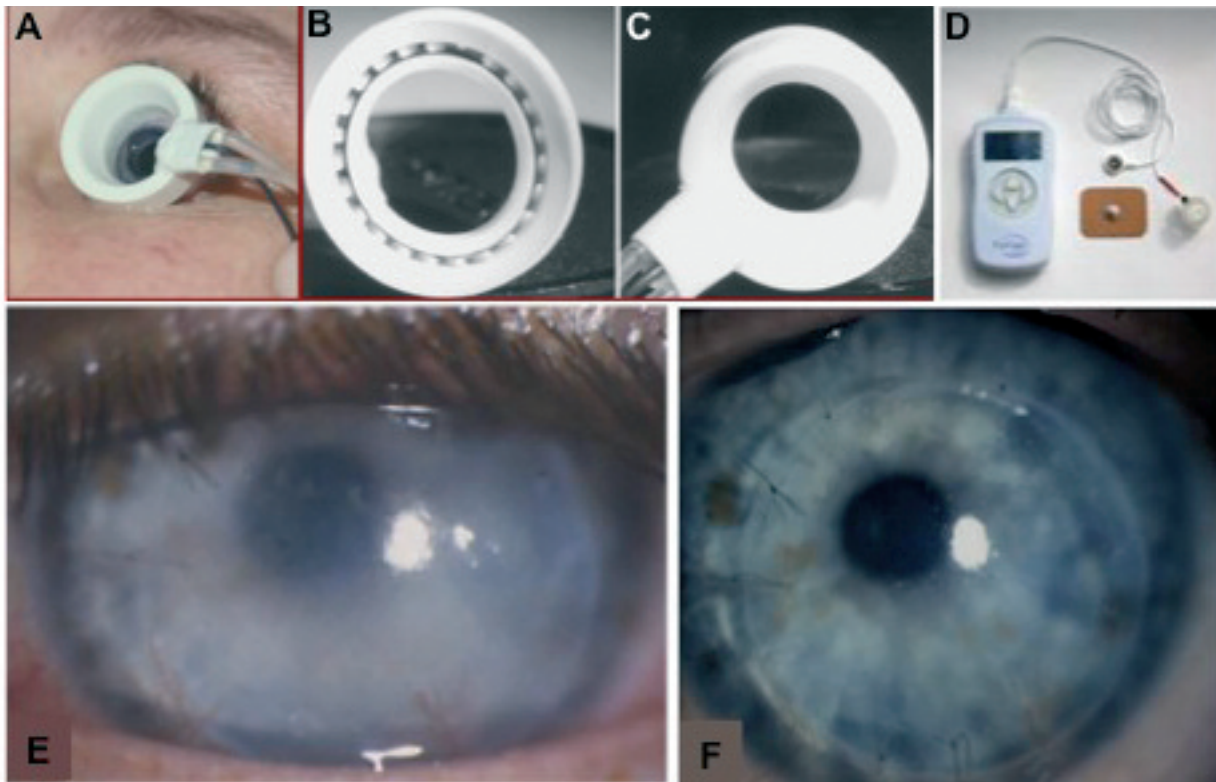


Figure 2 : **A, B, C** : Applicateur scléral d'iontophorèse dans lequel circule la solution thérapeutique ainsi que l'électrode active. **D** : Appareil d'iontophorèse complet composé d'un générateur, d'un applicateur scléral, de tubulures et d'une électrode de retour. **E, F** : Examen en lampe à fente d'un rejet aigu de greffe cornéenne avant traitement (E), à J4 (F) après avoir reçu trois iontophorèses (1,5 mA pendant 4 minutes) de succinate de méthylprednisolone (62,5 mg/mL). **A-C, E-F** : d'après Halhal et al. 2004

d'albumine ont été utilisées comme système de délivrance de médicaments dans le vitré, avec une excellente tolérance (Irache *et al.* 2005 ; Normand *et al.* 2005). La forme liposomale d'encapsulation des PA (antibiotique, antiviral, antifongique, antimétabolite...) rend les molécules moins toxiques que leur forme libre (Bochot *et al.* 2000) et augmente leur demi-vie, sauf en cas d'infection. Des oligonucléotides et des peptides ont été expérimentalement administrés de cette manière (Bochot *et al.* 2002 ; Lajavardi *et al.* 2007), ce qui améliore leur stabilité dans le vitré (Bochot *et al.* 2000).

AMÉLIORATION DE LA DÉLIVRANCE DE MÉDICAMENTS PAR L'UTILISATION DU COURANT ÉLECTRIQUE

L'application d'un courant électrique de faible intensité sur un tissu oculaire a pour effet de rendre plus perméables les barrières oculaires et d'améliorer la pénétration intratissulaire et intracellulaire soit d'un principe directement actif, soit d'un plasmide codant une protéine thérapeutique. Deux grands systèmes qui utilisent cette propriété ont été développés en ophtalmologie: l'iontophorèse, dont un dispositif oculaire sera commercialisé sous peu par la société Eyegate Pharma, et l'électrotransfert du muscle ciliaire, en phase expérimentale.

iontophorèse oculaire

L'iontophorèse est l'application d'un courant électrique de faible densité pour améliorer la pénétration de molécules préférentiellement chargées, au travers de voies de passage tissulaires et cellulaires préexistantes. Ce procédé est utilisé pour faciliter la pénétration d'acides nucléiques (Berdugo *et al.* 2003 ; Kalia *et al.* 2004). Les paramètres qui influencent l'efficacité de la délivrance tissulaire sont le pH du milieu, la densité du courant, la forme des électrodes, la durée du traitement, la concentration et les propriétés physicochimiques de la molécule. Le matériel comprend un générateur de courant électrique, un applicateur oculaire jouant le rôle à la fois d'électrode et de réservoir de PA, mettant celui-ci en contact avec l'œil au moment où le courant électrique facilite la pénétration intraoculaire de la molécule d'intérêt; enfin une électrode de retour de contact (**figure 2 A à D**). L'iontophorèse peut être transcornéenne, transpalpébrale, ou transcornéosclérale. L'iontophorèse transcornéosclérale (1 ou 1,5 mA/cm²) permet l'obtention de concentrations significatives d'oligonucléotides intacts, fragments nucléiques permettant d'inhiber spécifiquement l'expression d'un gène, une heure après, dans la cornée, l'iris et le corps ciliaire, six heures après, dans la rétine et la choroïde (Voigt *et al.* 2002; Berdugo *et al.* 2003). Ses avantages sont sa facilité d'utilisation, l'absence d'effraction oculaire et de douleur et son absence de toxicité lorsque le courant est correctement dosé.

En ophtalmologie humaine, l'iontophorèse de corticostéroïdes a été cliniquement testée dans le traitement du rejet aigu de greffe cornéenne (**figure 2 E-F**). Le phénomène de rejet a pu être arrêté dans 15 cas sur 17 (Behar-Cohen *et al.* 1997). Ce procédé, qui a été développé dans notre laboratoire, est sur le point d'être commercialisé, pour l'ophtalmologie humaine, par la société Eyegate Pharma (Seah *et al.* 2005).

Électrotransfert de plasmide dans le muscle ciliaire

L'électrotransfert est une méthode physique de transfert de gènes au cours de laquelle l'application, sur le tissu cible - ici le muscle ciliaire oculaire -, d'impulsions électriques courtes permet une transfection génique. Il constitue une alternative à la thérapie génique virale pour laquelle le devenir des particules virales dans l'organisme n'est pas encore maîtrisé. Les autres avantages de l'électrotransfert sont son coût, la facilité de sa mise en œuvre et surtout, son efficacité. Dans la plupart des publications, l'électrotransfert induit une expression du transgène 10 à 1000 fois plus importante que l'injection d'un plasmide nu sans cou-

rant électrique (Mir *et al.* 1999). Le matériel comprend un générateur d'impulsions électriques et des électrodes dont la forme est adaptée au tissu cible. L'application d'impulsions électriques déstabilise la membrane plasmique et au-delà d'un seuil, la perméabilise. Cette déstabilisation est réversible et dure quelques minutes (Somari *et al.* 2000). Cependant, l'ADN, de par sa taille, doit être injecté dans le tissu avant l'application des impulsions.

Notre équipe a développé cette méthode d'électrotransfert de plasmide dans le muscle ciliaire. Celui-ci est utilisé comme «réservoir» sécrétant une protéine thérapeutique dans les milieux oculaires pendant plusieurs mois (Bloquel *et al.* 2006). Sa situation anatomique permet de cibler les maladies autant du segment antérieur que du segment postérieur. L'injection dans le muscle ciliaire se fait par une aiguille 30G, puis les électrodes sont placées comme le montre la **figure 3A**: la cathode-fil, dans le canal laissé par l'aiguille d'injection et l'anode, en regard de celle-ci, à la surface sclérale. La localisation de l'expression du gène rapporteur dans le muscle ciliaire est contrôlée macroscopiquement et en immunohistochimie (**figure 3B**).

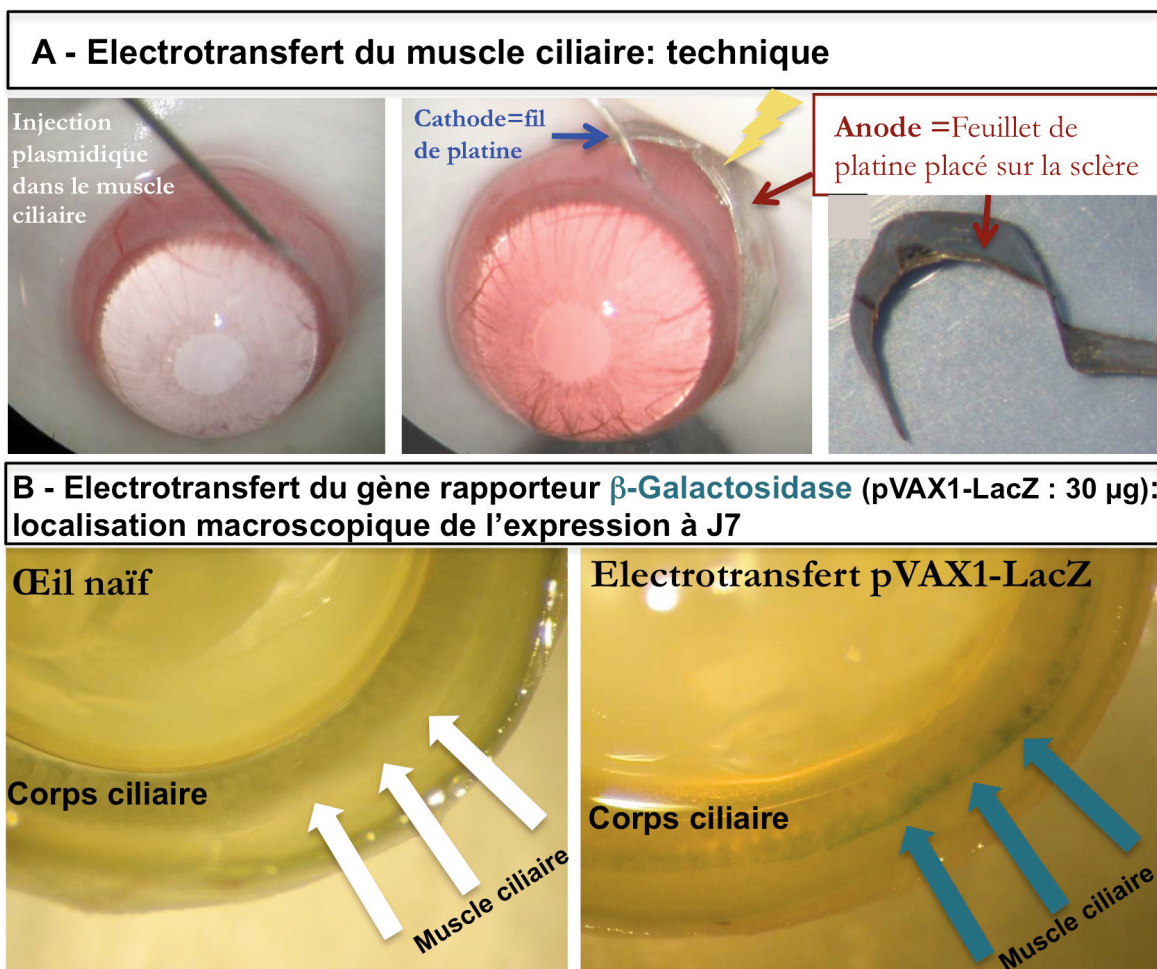


Figure 3 : **A :** Electrotransfert de plasmide dans le muscle ciliaire : une cathode-fil est introduite dans le canal laissé par l'injection du plasmide en solution, une anode est placée à l'extérieur au contact de la sclère en regard du muscle ciliaire ; **B :** Localisation macroscopique de l'expression d'un gène rapporteur codant la β -galactosidase (bleue) à sept jours. Gauche : œil témoin non traité – Droite : œil traité par électrotransfert de plasmide codant la β -galactosidase. Les flèches délimitent le muscle ciliaire. D'après Touchard *et al.* 2009

COMMUNICATION

Plusieurs protéines ont ainsi été produites par le muscle ciliaire: une protéine fluorescente, la luciférase (**figure 4**), un récepteur soluble du TNF α (cytokine pro-inflammatoire), l'érythropoïétine. On obtient un fort niveau d'expression protéique à la fois dans l'humeur aqueuse et dans le vitré pendant trois à neuf mois. Le potentiel thérapeutique de l'électrotransfert d'un plasmide codant ce récepteur soluble du TNF α (qui piège le TNF α) a été testé chez le rat dans un modèle d'uvéïte induite par endotoxine. De forts niveaux d'expression du récepteur ont été mesurés dans les milieux oculaires, en relation avec une forte inhibition des signes cliniques et histologiques de l'uvéïte, tandis que les taux sanguins étaient non mesurables (Bloquel *et al.* 2006 ; Kowalczyk *et al.* 2009 ; Touchard *et al.* 2009).

On voit donc se développer, au travers de ces nouvelles méthodes d'administration, une autre conception du traitement ophtalmologique qu'on pourrait qualifier de « sur mesure ». La réponse aux questions : « à quel stade en est la maladie ? », « Quel est le tissu ou le type cellulaire à traiter ? », « Dans quel état se

trouve-t-il ? », « Quel type de molécule devons-nous administrer, à quelle dose et pendant combien de temps ? », déterminera le choix de la méthode la plus adaptée : choix d'un substrat, d'un dispositif et d'une voie d'accès. La nécessité cruciale de limiter le nombre d'injections intraoculaires dans le traitement des maladies chroniques a accéléré la mise au point de systèmes de libération prolongée. Des méthodes non virales de transfert de gène se développent en alternative aux méthodes virales actuelles, avec un éventail de tissus cibles de plus en plus large, et la perspective de transformer un tissu oculaire en une fabrique produisant *in situ* son propre médicament est tentante. Ce ciblage de plus en plus précis, favorisé par des méthodes locales spécifiques, non seulement améliore l'efficacité des traitements, mais minimise les effets indésirables locaux comme systémiques ; et ce dernier aspect est particulièrement important quand on sait que la plupart des maladies cécitantes sont des affections locales qui ne menacent en rien la vie des patients.

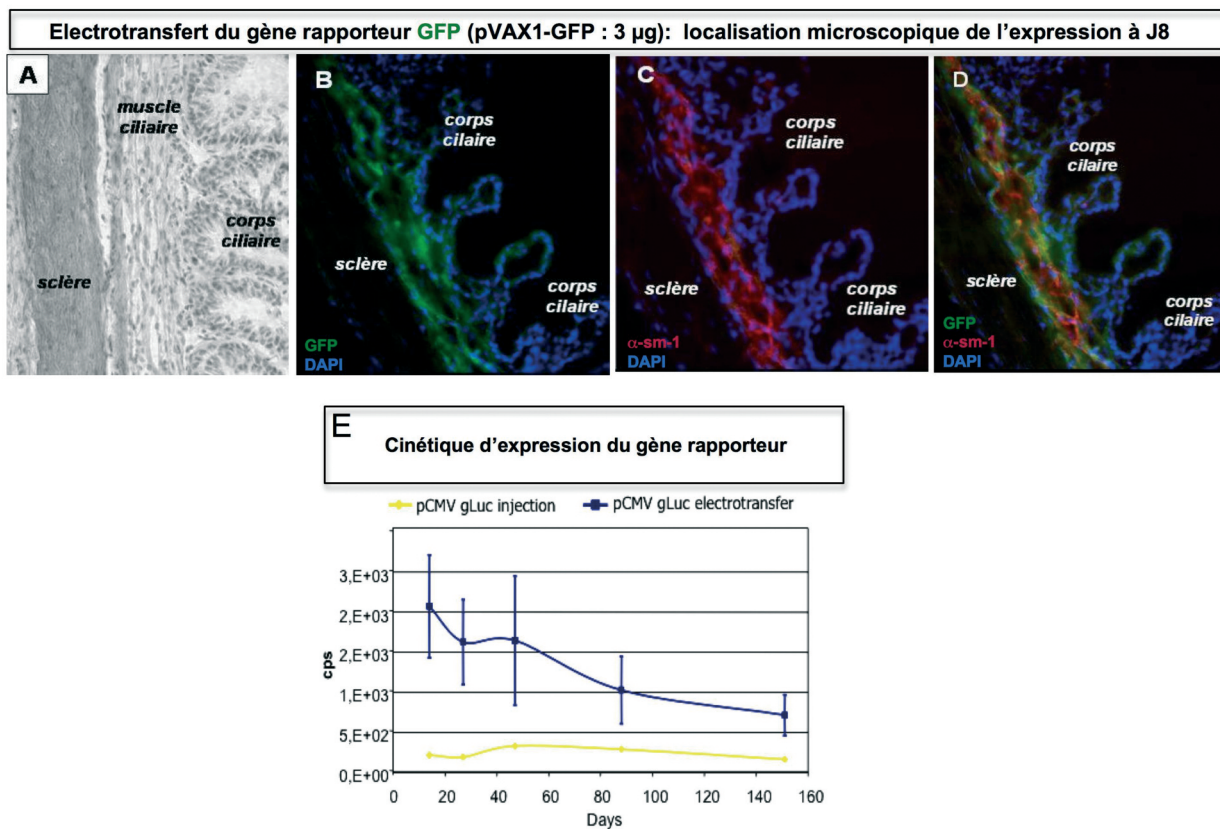


Figure 4 : **A :** Histologie du corps ciliaire ; **B :** Localisation microscopique de l'expression d'un gène rapporteur codant la Green Fluorescent Protein (GFP verte) à J8 ; **C :** Localisation du muscle ciliaire (marqué par l'anticorps anti alpha-sm-1, rouge) ; **D :** Co-localisation des deux marquages (d'après Bloquel *et al.* 2005) ; **E :** Cinétique d'expression d'un gène rapporteur codant la luciférase : mesure de l'activité de la luciférase sécrétée au cours du temps dans le groupe traité par électrotransfert du gène rapporteur (courbe bleue) ou par injection simple de ce gène, sans électrotransfert (courbe jaune). Avec l'aimable autorisation d'Elodie Touchard, Inserm UMRS872, équipe 17.

BIBLIOGRAPHIE

- Andrieu-Soler, C., Aubert-Pouessel, A., Doat, M., Picaud, S., Halhal, M., Simonutti, M., Venier-Julienne, M. C., Benoit, J. P., Behar-Cohen, F. 2005. Intravitreal injection of PLGA microspheres encapsulating GDNF promotes the survival of photoreceptors in the rd1/rd1 mouse. *Mol Vis.* 11: 1002–1011.
- Behar-Cohen, F. F., Parel, J. M., Pouliquen, Y., Thillaye-Goldenberg, B., Goureau, O., Heydolph, S., Courtois, Y., De Kozak, Y. 1997. Iontophoresis of dexamethasone in the treatment of endotoxin-induced-uveitis in rats. *Exp Eye Res.* 65(4): 533–545.
- Bejjani, R. A., BenEzra, D., Cohen, H., Rieger, J., Andrieu, C., Jeanny, J. C., Gollomb, G., Behar-Cohen, F. F. 2005. Nanoparticles for gene delivery to retinal pigment epithelial cells. *Mol Vis.* 11: 124–132.
- Berdugo, M., Valamanesh, F., Andrieu, C., Klein, C., Benezra, D., Courtois, Y., Behar-Cohen, F. 2003. Delivery of antisense oligonucleotide to the cornea by iontophoresis. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* 13(2): 107–114.
- Bloquel, C., Bejjani, R., Bigey, P., Bedioui, F., Doat, M., BenEzra, D., Scherman, D., Behar-Cohen, F. 2006. Plasmid electrotransfer of eye ciliary muscle: principles and therapeutic efficacy using hTNF- α soluble receptor in uveitis. *FASEB J.* 20(2): 389–391.
- Bochot, A., Couvreur, P., Fattal, E. 2000. Intravitreal administration of antisense oligonucleotides: potential of liposomal delivery. *Prog Retin Eye Res.* 19(2): 131–147.
- Bochot, A., Fattal, E., Boutet, V., Deverre, J. R., Jeanny, J. C., Chacun, H., Couvreur, P. 2002. Intravitreal delivery of oligonucleotides by sterically stabilized liposomes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 43(1): 253–259.
- Bourges, J. L., Gautier, S. E., Delie, F., Bejjani, R. A., Jeanny, J. C., Gurny, R., BenEzra, D., Behar-Cohen, F. F. 2003. Ocular drug delivery targeting the retina and retinal pigment epithelium using polylactide nanoparticles. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 44(8): 3562–3569.
- Bush, R. A., Lei, B., Tao, W., Raz, D., Chan, C. C., Cox, T. A., Santos-Muffley, M., Sieving, P. A. 2004. Encapsulated cell-based intraocular delivery of ciliary neurotrophic factor in normal rabbit: dose-dependent effects on ERG and retinal histology. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 45(7): 2420–2430.
- de Kozak, Y., Andrieux, K., Villarroja, H., Klein, C., Thillaye-Goldenberg, B., Naud, M. C., Garcia, E., Couvreur, P. 2004. Intraocular injection of tamoxifen-loaded nanoparticles: a new treatment of experimental autoimmune uveoretinitis. *Eur J Immunol.* 34(12): 3702–3712.
- Driot, J. Y., Novack, G. D., Rittenhouse, K. D., Milazzo, C., Pearson, P. A. 2004. Ocular pharmacokinetics of fluocinolone acetonide after Retisert intravitreal implantation in rabbits over a 1-year period. *J Ocul Pharmacol Ther.* 20(3): 269–275.
- Einmahl, S., Behar-Cohen, F., D'Hermies, F., Rudaz, S., Tabatabay, C., Renard, G., Gurny, R. 2001. A new poly(ortho ester)-based drug delivery system as an adjunct treatment in filtering surgery. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 42(3): 695–700.
- Einmahl, S., Ponsart, S., Bejjani, R. A., D'Hermies, F., Savoldelli, M., Heller, J., Tabatabay, C., Gurny, R., Behar-Cohen, F. 2003. Ocular biocompatibility of a poly(ortho ester) characterized by autocatalyzed degradation. *J Biomed Mater Res A* 67(1): 44–53.
- Irache, J. M., Merodio, M., Arnedo, A., Camapanero, M. A., Mirshahi, M., Espuelas, S. 2005. Albumin nanoparticles for the intravitreal delivery of anticytomegaloviral drugs. *Mini Rev Med Chem.* 5(3): 293–305.
- Kagaya, F., Usui, T., Kamiya, K., Ishii, Y., Tanaka, S., Amano, S., Oshika, T. 2002. Intraocular dexamethasone delivery system for corneal transplantation in an animal model. *Cornea* 21(2): 200–202.
- Kalia, Y. N., Naik, A., Garrison, J., Guy, R. H. 2004. Iontophoretic drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev.* 56(5): 619–658.
- Kowalczyk, L., Touchard, E., Camelo, S., Naud, M. C., Castaneda, B., Brunel, N., Besson-Lescure, B., Thillaye-Goldenberg, B., Bigey, P., BenEzra, D., et al. 2009. Local ocular immunomodulation resulting from electrotransfer of plasmid encoding soluble TNF receptors in the ciliary muscle. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 50(4): 1761–1768.
- Lajavardi, L., Bochot, A., Camelo, S., Goldenberg, B., Naud, M. C., Behar-Cohen, F., Fattal, E., de Kozak, Y. 2007. Downregulation of endotoxin-induced uveitis by intravitreal injection of vasoactive intestinal Peptide encapsulated in liposomes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 48(7): 3230–3238.
- Leong, K. W., D'Amore, P. D., Marletta, M., Langer, R. 1986. Bioerodible polyanhydrides as drug-carrier matrices. II. Biocompatibility and chemical reactivity. *J Biomed Mater Res.* 20(1): 51–64.
- Lim, J. I., Wolitz, R. A., Dowling, A. H., Bloom, H. R., Irvine, A. R., Schwartz, D. M. 1999. Visual and anatomic outcomes associated with posterior segment complications after ganciclovir implant procedures in patients with AIDS and cytomegalovirus retinitis. *Am J Ophthalmol.* 127(3): 288–293.
- Miller, R. A., Brady, J. M., Cutright, D. E. 1977. Degradation rates of oral resorbable implants (polylactates and polyglycolates): rate modification with changes in PLA/PGA copolymer ratios. *J Biomed Mater Res.* 11(5): 711–719.
- Mir, L. M., Bureau, M. F., Gehl, J., Rangara, R., Rouy, D., Caillaud, J. M., Delaere, P., Branellec, D., Schwartz, B., Scherman, D. 1999. High-efficiency gene transfer into skeletal muscle mediated by electric pulses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96(8): 4262–4267.
- Normand, N., Valamanesh, F., Savoldelli, M., Mascarelli, F., BenEzra, D., Courtois, Y., Behar-Cohen, F. 2005. VP22 light controlled delivery of oligonucleotides to ocular cells *in vitro* and *in vivo*. *Mol Vis.* 11: 184–191.
- Ogura, Y. & Kimura, H. 1995. Biodegradable polymer microspheres for targeted drug delivery to the retinal pigment epithelium. *Surv Ophthalmol.* 39 Suppl 1: S17–24.
- Peyman, G. A., Khoobehi, B., Shaibani, S., Shamsnia, S., Ribeiro, I. 1996. A fluorescent vesicle system for the measurement of blood velocity in the choroidal vessels. *Ophthalmic Surg Lasers* 27(6): 459–466.
- Polak, M. B., Valamanesh, F., Felt, O., Torriglia, A., Jeanny, J. C., Bourges, J. L., Rat, P., Thomas-Doyle, A., BenEzra, D., Gurny, R., et al. 2008. Controlled delivery of 5-chlorouracil using poly(ortho esters) in filtering surgery for glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 49(7): 2993–3003.
- Seah, S. K., Husain, R., Gazzard, G., Lim, M. C., Hoh, S. T., Oen, F. T., Aung, T. 2005. Use of surodex in phacotrabeculectomy surgery. *Am J Ophthalmol.* 139(5): 927–928.
- Sieving, P. A., Caruso, R. C., Tao, W., Coleman, H. R., Thompson, D. J., Fullmer, K. R., Bush, R. A. 2006. Ciliary neurotrophic factor (CNTF) for human retinal degeneration: phase I trial of CNTF delivered by encapsulated cell intraocular implants. *Proc Natl Acad Sci USA* 103(10): 3896–3901.
- Somiari, S., Glasspool-Malone, J., Drabick, J. J., Gilbert, R. A., Heller, R., Jaroszeski, M. J., Malone, R. W. 2000. Theory and *in vivo* application of electroporative gene delivery. *Mol Ther.* 2(3): 178–187.
- Tao, W., Wen, R., Goddard, M. B., Sherman, S. D., O'Rourke, P. J., Stabila, P. F., Bell, W. J., Dean, B. J., Kauper, K. A., Budz, V. A., et al. 2002. Encapsulated cell-based delivery of CNTF reduces photoreceptor degeneration in animal models of retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 43(10): 3292–3298.
- Thanos, C. G., Bell, W. J., O'Rourke, P., Kauper, K., Sherman, S., Stabila, P., Tao, W. 2004. Sustained secretion of ciliary neurotro-

COMMUNICATION

phic factor to the vitreous, using the encapsulated cell therapy-based NT-501 intraocular device. *Tissue Eng.* 10(11-12): 1617–1622.

- Tomita, M., Lavik, E., Klassen, H., Zahir, T., Langer, R., Young, M. J. 2005. Biodegradable polymer composite grafts promote the survival and differentiation of retinal progenitor cells. *Stem Cells* 23(10): 1579–1588.
- Touchard, E., Bloquel, C., Bigey, P., Kowalczyk, L., Jonet, L., Thillaye-Goldenberg, B., Naud, M. C., Scherman, D., de Kozak, Y., Benezra, D., *et al.* 2009. Effects of ciliary muscle plasmid electrotransfer of TNF- α soluble receptor variants in experimental uveitis. *Gene Ther.* 16(7): 862–873.
- Vert, M., Mauduit, J., Li, S. 1994. Biodegradation of PLA/GA polymers: increasing complexity. *Biomaterials* 15(15): 1209–1213.
- Voigt, M., de Kozak, Y., Halhal, M., Courtois, Y., Behar-Cohen, F. 2002. Down-regulation of NOSII gene expression by iontophoresis of anti-sense oligonucleotide in endotoxin-induced uveitis. *Biochem Biophys Res Commun.* 295(2): 336–341.
- Xie, L., Sun, J., Yao, Z. 2003. Heparin drug delivery system for prevention of posterior capsular opacification in rabbit eyes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 241(4): 309–313.